Münster i/W. 1934. Nr 228 Med Dis

Aus dem Hygienischen Institut der Medizinischen Akademie
in Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. Manteufel

Untersuchungen über die Elektrophorese des Vaccine-Virus

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Würde eines

Doctor medicinae

durch die Medizinische Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität zu Münster
in Gemeinschaft mit der Medizinischen Akademie
in Düsseldorf.

vorgelegt von

KARL SEILING

aus Recklinghausen

19 NOLTE 32

Dissertations-Verlag G. H. Nolte Düsseldorf

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Akademie in Düsseldorf und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster

gez. Krauß
Rektor der Medizinischen Akademie in Düsseldorf

gez. Herzog
Dekan der Medizinischen Fakultät Münster

gez. Herzberg
1. Berichterstatter

gez. Jötten
2. Berichterstatter

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

In einer im Jahre 1929 erschienenen Arbeit von Olitsky und Long berichten die Verfasser über den Nachweis von Vaccine-Virus durch Elektrophorese im immunen Körper, einen Nachweis, der bisher mit den gewöhnlichen Mitteln der Tierimpfung nicht möglich war. Die Versuche wurden mit Organaufschwemmungen von Kaninchen, die geimpft und wieder vollständig von der Vaccine-Infektion geheilt waren, durchgeführt. Es zeigte sich, daß in diesen Organaufschwemmungen durch Elektrophorese Vaccine-Virus nachweisbar wurde, und daß das Virus im elektrischen Feld von der Kathode zur Anode hinwanderte, also elektronegativ geladen war. In sämtlichen Versuchen ließ sich das Virus nur an der Anode nachweisen, nie an der Kathode. Gelang es nicht, das Virus wiederzugewinnen, so waren die Tiere auch der Immunität verlustig gegangen. Die Verfasser zogen hieraus den Schluß, daß die Immunität an die Gegenwart des lebenden Virus gebunden sei.

Von denselben Verfassern, Olitsky, Rhoads und Long liegt eine Arbeit über Poliomyelitis-Virus und Elektrophorese vor. Auch hier gelang es ihnen, noch 23 Tage nach der Infektion das Virus aus dem Rückenmark zu isolieren, und zwar nur mit Hilfe der Elektrophorese. Die Wanderungsrichtung war wie beim Vaccine-Virus streng anodisch.

Vor dem näheren Eingehen auf die eben angeführten Arbeiten seien noch einige Angaben über die Elektrophorese selbst gemacht.

Unter Elektrophorese versteht man die Bewegung feinster schwebender Teilchen unter dem Einfluß einer Potentialdifferenz.

Bakterien werden nach A. v. Szent-Györgyi zuerst von H. Bechhold, Cernovodeanu und Henri auf ihre Wanderung im elektrischen Stromfeld untersucht. Es zeigte sich, daß Bakterien vorwiegend anodisch wanderten.

A. v. Szent-Györgyi, der die elektrophoretische Wanderung unter dem Mikroskop verfolgte, kam zu denselben Ergebnissen.

In diesen Arbeiten wurden die Versuche über elektrophoretische Wanderung mit visiblen, nicht filtrierbaren Mikroorganismen durchgeführt. Douglas und Smith waren die ersten, die filtrierbares, invisibles Virus dem Elektrophoreseversuch unterwarfen. Bei ihren Versuchen verwandten sie Todds Apparatur und fanden, daß das Vaccine-Virus, wie es in Auf-

schwemmungen von Geweben enthalten ist, elektronegativ geladen ist. Bei einer Wasserstoffionenkonzentration von P_H 5,5 bis 8,4 wanderte das Virus immer zum positiven Pol.

Diese von Douglas und Smith angegebenen Resultate konnten Olitsky und Long bestätigen. Sie haben in ihrer Arbeit noch weitere Versuche hinzugefügt, um diese Angaben zu stützen. Auf Grund dieser sehr ausführlichen und in ihren Schlußfolgerungen sehr weitgehenden Arbeit habe ich auf Veranlassung von Herrn Oberarzt Dr. Herzberg diese Versuche wiederholt und die Einwirkung des elektrischen Stromes auf das Vaccine-Virus näher geprüft.

Vorerst seien noch nähere Angaben gemacht über die Arbeit von Olitsky und Long und über die Arbeiten, die bereits im Anschluß an diese vorliegen.

Die Verfasser gebrauchten zu ihren Elektrophoreseversuchen eine Apparatur, die, wie sie angeben, eine Anwendung der Methode von Todd, Field und Teague war. Die Apparatur bestand aus 3 gleichen Glas-U-Röhren, die an Ständern befestigt waren. Die Höhe dieser Röhren betrug 10 cm bei einer inneren Weite von 1,5 cm. Eine jede faßte 40—44 ccm. Die 3 U-Röhren waren untereinander mit Hilfe von schmalen Glas-U-Röhren verbunden, die zur Aufnahme des Agars bestimmt waren. Diese Agarröhrchen waren 6,5 cm hoch und hatten eine Weite von 4 mm. Nur bei 2 Verbindungsröhren, die den ersten und letzten Schenkel der U-Röhren mit den Metallelektroden verbanden, war der eine Schenkel, der in Zinksulfatlösung tauchte, 12 cm lang, um ein Hinüberwandern der Zinksulfatlösung in die Flüssigkeit der großen U-Röhren zu verhindern. Die Stromzuführung erfolgte durch amalgamierte Zinkelektroden, die in gesättigte Zinksulfatlösung tauchten. Als Stromquelle diente Gleichstrom von 120 Volt Spannung, der der Lichtleitung entnommen wurde. Die Zinkelektroden selbst wurden zu Beginn der Versuche mit 10% H_2SO_4 Lösung gereinigt und dann mit Quecksilberamalgam überzogen.

Die auf Vaccine-Virus zu untersuchende Gewebaufschwemmung wurde aus Organen von Kaninchen gewonnen, die cutan oder intracutan Wochen oder Monate vorher geimpft waren. Die zerriebenen Organe wurden mit 100 ccm dest. Wasser, das gewöhnlich eine Wasserstoffionenkonzentration von 6,5 bis 6,8 hatte, zu einer Emulsion aufgeschwemmt. Von der zentrifugierten Mischung wurden etwa 30—32 ccm in jede der drei U-Röhren gebracht. Hierauf wurden die Verbindungsröhren, die vorher mit 1 %igem Kochsalzagar gefüllt waren, so angebracht, daß die Enden etwa 1 bis1,5 cm in die zu untersuchende Flüssigkeit hereinragten. Durch diese Anordnung wurde dann ein Gleichstrom von 116 bis 120 Volt während 3 Stunden hindurchgeschickt. An einem eingeschalteten Voltmeter wurde das Potentialgefälle abgelesen.

Am Ende des Versuchs wurden die Agarröhrchen herausgenommen und etwa 1 bis 1,5 cm herausgeschält. Die Agarstückchen der 3 positiven Pole kamen zusammen in einen Mörser, ebenso die der 3 negativen Pole. Die fein zerriebene Agaraufschwemmung wurde dann intratestikulär verimpft und zwar Anoden- und Kathodenmaterial getrennt auf verschiedene Tiere. Die Versuche wurden durchgeführt mit einem P_H der Lösung von 6, 7,2, 7,5 und 8. In jedem Falle ließ sich das Virus nur am positiven Pol nachweisen.

Mit Hilfe der Elektrophorese konnten Olitsky und Long das Vaccine-Virus auch bei immunen Kaninchen nachweisen, die 12, 51, 56, 114 und 133 Tage vorher intracutan mit Neuro-Lapine-Virus geimpft worden waren.

Die Verfasser stellten dann mit mehreren Kaninchen einen weiteren Immunitätsversuch an. Zu diesem Zwecke benötigten sie 6 Kaninchen, die alle intracutan mit dem Virus geimpft wurden. Kaninchen A und B wurden jedes an 3 Stellen mit Neuro-Lapine-Virus geimpft, und zwar an 2 Stellen mit 0,25 ccm normalem Kaninchenserum plus 0,25 ccm Virus, an der 3. Stelle mit 0,25 ccm Ringerlösung und 0,25 ccm Virus. Kaninchen C wurde mit einer Mischung von Virus plus einem Extract aus normalem Kaninchentestikel geimpft, die Kaninchen D, E und F mit einem gewöhnlichen Stamm von Neuro-Lapine-Testikel-Virus.

Nach verschiedenen Zeiträumen wurden dann Gewebe (Haut, Milz, Hoden) der geimpften Kaninchen entnommen, um durch Elektrophorese das Vaccine-Virus in ihnen nachweisen zu können. Die Immunität der Kaninchen wurde so geprüft, daß sie an verschiedenen Stellen mit Testikelvirus in Verdünnung von 1 : 100 bis 1 : 6,400 geimpft wurden. Die gewonnenen Resultate veranschaulicht am besten folgende Tabelle.

Kaninchen:	Elektrophorese von Aufschwemmungen von:	Tage nach der Virusimpfung:	Erhaltenes Virus:	Immunitätsversuch Tage nach der Virusimpfung:	Immunitätsversuch Ergebnis:
B	Testikel	143	—	158	nicht immun
C	Testikel	114	+	119	immun
D	Haut	181	—	133	immun
	Testikel	188	—		
	Milz	133	+		
E	Testikel	171	—	185	nicht immun
	Milz	178	—		
F	Testikel	170	—	183	nicht immun
	Milz	175	—		

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß es bei 2 Kaninchen C und D gelang, das Virus aus den Organen wiederzugewinnen und zwar einmal aus den Testikeln und einmal aus der Milz. Aus der Milz am längsten, und zwar noch nach 133 Tagen. Diese 2 Kaninchen, bei denen also das Virus mit Hilfe der Elektrophorese in den Organen nachgewiesen werden konnte, waren

immun; die anderen Kaninchen dagegen waren nicht immun.

Bei Versuchen an Poliomyelitis abgeheilten Affen benutzten Olitsky, Rhoads und Long dieselbe Apparatur. Es wurden im ganzen 4 Versuche durchgeführt.

Im ersten Versuch waren bei der Verimpfung des elektrophoresierten Rückenmarks sowohl der Anodenagar als auch der Kathodenagar virushaltig. Die Verfasser nehmen an, daß in der Markaufschwemmung, also der Flüssigkeit, die sich in den einzelnen U-Röhren befand, zuviel Virus war, und bei der Entnahme einzelne Virusteilchen an der Kathode haften blieben.

Im 2. Versuch wurde deshalb die Aufschwemmung durch ein Berkefeldfilter filtriert und dann elektrophoresiert. Jetzt ließ sich das Virus nur an der Anode nachweisen.

Der 3. Versuch ergab ebenfalls ein positives Ergebnis nur bei Verimpfung des Anodenagars. Der Versuch wurde so ausgeführt, daß eine Mischung von gleichen Teilen Immunserum plus Rückenmark direkt intracerebral verimpft wurde. Das Ergebnis war negativ. Der Rest des Marks wurde der Elektrophorese unterworfen und zwar unter folgenden Bedingungen: 114 Volt, 4,2 Milliampère, 3 Stunden und einem P_H der Lösung von 6,0. Der verimpfte Anodenagar erzeugte nach 11 Tagen Poliomyelitis, wohingegen die Verimpfung des Kathodenagars ein negatives Ergebnis ergab. Beim letzten Versuch wurde die Markaufschwemmung eines Affen untersucht, der 23 Tage vorher mit Poliomyelitis inficiert worden war, dessen Lähmungen aber wieder völlig geschwunden waren. Auch hier rief nur die Verimpfung des Anodenagars die typischen Erscheinungen der Poliomyelitis hervor.

Die Verfasser sehen hierin eine Bestätigung ihrer Anschauung über die Immunität bei Viruskrankheiten: daß diese an die Gegenwart des lebenden Virus gebunden sei.

Yaoi und Kasai, die die Ergebnisse von Olitsky und Long nachuntersuchten, konten diese im großen und ganzen bestätigen. Zu ihren Versuchen benutzten sie einen U-förmigen Apparat nach Höber unter Variieren der Wasserstoffionenkonzentration. Es zeigte sich, daß auf der sauren Seite die Ergebnisse unklar waren, zwischen P_H 6 und 7 konnte das Vaccine-Virus in 4 Versuchen dreimal an der Anode nachgewiesen werden, aber einmal auch an der Kathode. Ueber P_H 8—9 wurde das Virus dagegen nur an der Anode nachgewiesen. Eine vollständige Ueberführung zum positiven Pol fand dagegen in keinem Versuche statt, denn in dem zentralen Teile der Röhre wurde das Virus in jedem Falle gefunden.

Weitere Arbeiten, die sich sehr eingehend mit der Frage der elektrophoretischen Wanderung und auch des Nachweises des Vaccine-Virus im immunen Tier beschäftigen, sind von den

französischen Autoren Lépine und Levaditi veröffentlicht worden.

In seinen ersten Versuchen benutzte Pierre Lépine die von Olitsky und Long beschriebene Apparatur und führte die Versuche genau nach den Angaben dieser Verfasser aus. Die Wasserstoffionenkonzentration der zu untersuchenden Flüssigkeit bewegte sich zwischen P_H6,8 und 7,6. Die Intensität des verwandten Stromes schwankte zwischen 0,6 und 5,8 Milliampère bei einer Potentialdifferenz von 96 bis 112 Volt. Diesen Strom ließ der Verfasser während 3 bis 15 Stunden durch die Flüssigkeit hindurchgehen. Er stellte die Versuche mit Organaufschwemmungen von immunen Kaninchen an, die 23 Tage bis 64 Tage vorher intravenös oder intracutan geimpft worden waren. An Organen wurden untersucht Nieren, Hoden und Ovar. Weiterhin wurden noch Gehirnemulsionen von Kaninchen dem Elektrophoreseversuch unterworfen, die an der Impfung mit dem Neuro-Lapine-Virus gestorben waren. Lépine kam zu folgenden Ergebnissen:

Erzeugte die Originalaufschwemmung bei intratestaler Verimpfung keine Vaccineveränderung, so konnte auch nicht mit Hilfe der Elektrophorese das Virus gewonnen werden. Zeigte sich die Originalemulsion bei der einfachen Tierimpfung virulent, so war ein Wiederfinden des Virus durch die Elektrophorese nicht immer möglich.

Bei positivem Befunde wurde es an beiden Elektroden gleichzeitig 2 mal gefunden, an der positiven Elektrode allein 1 mal und an der negativen Elektrode allein auch 1 mal.

Wie weiter unten zu ersehen ist, habe ich bei meinen eigenen Versuchen mit diesem Apparat die gleichen wechselnden Resultate erhalten.

Die nächste Arbeit von P. Lépine beschäftigt sich mit der Elektrophorese neutralisierter Neurolapine. Die Verdünnung von 1 : 500 wird 2 Stunden in den Brutschrank gebracht und dann 3 Stunden elektrophoresiert. Bei der intracutanen Verimpfung ließ sich stets Virus an der Anode nachweisen, an der Kathode und im nicht elektrophoresierten Teil dagegen nicht. Wurde dagegen intratestal verimpft (nach Ohtawara), so wurde mehrfach Virus im nicht elektrophoresierten Teil und auch an der Kathode gefunden. Die unvollständige Neutralisierung des Virus geht also aus der positiv verlaufenen intratestalen Verimpfung hervor.

Die unregelmäßigen Resultate, die P. Lépine bei seinen Versuchen, besonders bei den ersten, erhielt, führten ihn zur Konstrktion eines neuen Apparates, der die Nachteile des von Olitsky und Long angegebenen vermeiden soll. Ein Hauptnachteil des von den amerikanischen Autoren angegebenen Apparates besteht darin, daß die Elektroden zu Beginn des Versuches mit Virus in Berührung kommen und so das Resultat

leicht fälschen. Der von Lépine beschriebene Apparat ist eine Abart des unten noch näher zu beschreibenden Apparates von Todd. Der Hauptunterschied zwischen den beiden Apparaten besteht darin, daß der von P. Lépine 2 Hahnbohrungen besitzt, die in der Mitte zwischen lateralem und medialem Schenkel am horizontalen Ast angebracht sind. Die Aufnahmefähigkeit ist so größer.

In diesem Apparat wandert das Neuro-Lapine-Virus stets zum positiven Pol, und zwar unter denselben Bedingungen, unter denen der Apparat von Olitsky zweifelhafte oder negative Ergebnisse geliefert hatte. Versuche mit Herpesvirus ergaben dieselben Ergebnisse. Levaditi und Lépine benutzten den eben beschriebenen Apparat in zwei weiteren Versuchen zum Nachweis von Poliomyelitis-Virus bei abgeheilten Affen.

1. Versuch: Am 28. Juli 1930 intracerebrale Impfung mit einer Emulsion menschlichen Poliomyelitis-Marks. Am 7. August schlaffe Lähmung. Es erfolgt Heilung bei bleibender Lähmung. Am 28. August zeigt sich der Affe bei nachfolgender Impfung immun. Am 86. Tag nach der intracerebralen Impfung Tötung und Elektrophorese einer Emulsion vom Rückenmark unter folgenden Bedingungen: 118 Volt; 7,8 Milliampère; 3 Std. Versuchsdauer. Am Schluß des Versuches wurden dann verimpft: Originalemulsion, Flüssigkeit und Agar vom positiven Schenkel und Flüssigkeit und Agar vom negativen Schenkel. Nach 38 Tagen zeigten alle 3 Tiere auf die intracerebrale Verimpfung hin keinerlei Veränderungen. Es war also kein Virus in Freiheit gesetzt worden.

2. Versuch. 6. Oktober 1930 Impfung mit abgeschwächtem Poliomyelitis-Virus. 20. Oktober Gesundung mit spastischer Paraplegie der hinteren Extremitäten. Am 35. Tag Tötung und Elektrophorese des Rückenmarks. Nach 2,35 Stunden Versuchsdauer wurden dann wieder dieselben Teile intracerebral verimpft wie beim ersten Versuch. Auch dieser Versuch verlief negativ, denn nach 42 Tagen waren noch keine krankhaften Erscheinungen aufgetreten.

Weitere Versuche über Elektrophorese sind von Nicolau und Kopciowska veröffentlicht worden. Die Verfasser verwandten zu ihren Versuchen nicht Vaccine-Virus, sondern Herpes-Virus. Der Apparat von Olitsky und Long schien ihnen für die Bestimmung des Ladungssinnes ungeeignet. Bei dem Apparat von Todd und folgender Versuchsanordnung: 100 bis 110 Volt; 0,6— 2,9 Milliampère; 3—4 Stunden Versuchsdauer und P_H 6,8—7,8 ließ sich das Herpes-Virus stets am positiven Pol nachweisen. Zu einer vollständigen Ueberführung kam es nicht, denn am Ende des Versuchs war stets im zentralen Teil des Apparates Virus nachweisbar.

In einer weiteren Arbeit berichten die Verfasser über den Versuch, aus herpesimmunen Kaninchen das Virus mit Hilfe der

Elektrophorese zu gewinnen. Aber weder in der Hirnsubstanz noch durch die Elektrophorese dieser Substanz ließ sich Virus nachweisen.

Nicolau und Kopciowska stellten weiterhin Versuche bei Wut-Virus an. Sie fanden, daß das Wut-Virus im P_H-Bereich 5,8—8,4 anodisch wandert. Der Todd'sche Apparat war besser als der von Olitsky. In 2 Versuchen mit dem Olitsky-Apparat waren beide Agarpole negativ, obwohl nicht elektrophoresierte Flüsigkeit Wut hervorrief. Bei einem positiven Versuch war Virus an beiden Polen. Bei dem Apparat von Todd dagegen war nur eine anodische Wanderung festzustellen. Am Ende des Versuches war aber auch noch Virus im anodischen Schenkel verblieben.

Eigene Versuche.

Da es mir bei meinen eigenen Versuchen darauf ankam, neben der Wanderungsrichtung des Vaccine-Virus auch eine evtl. Anreicherung an der Anode nachzuweisen, ergaben sich auf Grund dieser Fragestellung schon einige Aenderungen in der Methodik des Nachweises des durch die Elektrophorese gewonnenen Virus. Denn um eine Anreicherung an der Anode nachweisen zu können, mußte ich ein Verfahren haben, das gestattete, die gefundenen Resultate auch quantitativ zu verwerten. Bei der intratestalen Verimpfung, einer Methode, wie sie Olitsky und Long zum Nachweis des Vaccine-Virus ausschließlich verwandten, war dies nicht möglich, und zwar aus folgendem Grunde. Die Testikel sind für das Virus so empfindlich, daß die geringsten Mengen hiervon eine positive Reaktion hervorrufen, also bei Organversuchen, bei denen es sich ja um diese minimalen Mengen handeln soll, die geeignetste Methode. Ein Rückschluß auf die Menge des Virus, das die Reaktion hervorruft, ist aber nicht möglich, weil sowohl kleine wie auch große Mengen des injicierten Virus zu demselben Ergebnis (Orchitis vaccinica) führen.

Ein Verfahren, das die rechnerische Auswertung gestattet, ist der von K. Herzberg angegebene Kaninchencornealversuch, denn „bei dem Kaninchencornealversuch wird die Annahme zugrunde gelegt, daß auf der Cornea jeder epithelialen Herdreaktion ursprünglich ein Virusteilchen entspricht". Bei dieser Methode wird das zu impfende Kaninchenauge mit 2% Kokainlösung kokainisiert. Der Bulbus wird mit einem Augenhaken herausgenommen und auf der Cornea mit einer scharfen Impf-Lanzette ein Gitter geritzt, das aus 15 Impfstrichen von oben nach unten und 15 darauf senkrechten von links nach rechts besteht. Es resultieren also 225 Schnittpunkte. Mit einer 1 ccm Pipette wird auf dieses Gitterwerk 0,05 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit aufgetragen. Bei der Feststellung der Herdzahl gibt man in den Konjunktivalsack 1—2 Tropfen einer 1%igen

Fluoresceinlösung, spült nach 30 Sekunden das Fluorescein mit einem Wasserstrahl heraus und kann dann die Herde ablesen, die sich als scharf umschriebene, grüne Pünktchen von der Cornea abheben. War das verimpfte Material nicht virushaltig, so ist die Cornea nach 24 Stunden wieder spiegelblank.

Dieser nur bei homogenen Lösungen exakt arbeitenden Methode steht für den vorliegenden Fall entgegen, daß die zu prüfende Flüssigkeit Agarbröckelchen enthält. Neben der cornealen Verimpfung verwandten wir deshalb als zweite noch die Hautverimpfung. Hier wird ganz entsprechend ein Gitternetz auf der Haut angelegt. Der Agar läßt sich hier besser als auf der Cornea einreiben. Die Herde kommen etwas später als auf der Cornea zur Entwicklung, lassen sich dann aber ebenfalls als scharf umschriebene Pusteln gut ablesen. Diese Methode hat ebenso wie der Cornealversuch den Vorteil, daß man die Resultate rechnerisch auswerten kann.

Bei den ausgeführten Versuchen können wir drei Versuchsreihen unterscheiden, nämlich die Versuche mit dem U-Röhren-Apparat nach Olitsky und Long, zweitens diejenigen mit dem Todd'schen Apparat und zuletzt die Organversuche am immunen Tier.

Versuche mit dem U-Röhren-Apparat nach Olitsky und Long.

In diesen Versuchen habe ich die Wanderungsrichtung des Virus in dem angegebenen Elektrophoreseapparat geprüft.

Der Apparat bestand aus drei U-Röhren aus Glas, die je eine lichte Weite von 16 mm und eine Höhe von 100 mm hatten. Das Fassungsvermögen jeder einzelnen U-Röhre betrug 30 bis 35 cm. Die drei Röhren waren so angebracht, daß kleinere U-Röhren, die ebenfalls aus Glas bestanden, gerade in sie hineinragten. Die Maße dieser Röhren waren 4 mm lichte Weite bei einer Höhe von 65 mm. Zu Beginn des Versuches wurden diese Röhrchen mit 1 % Kochsalzagar gefüllt. Dies bereitete zuerst Schwierigkeiten, da der Agar leicht im Lumen zu einer festen Masse erstarrt und so ein weiteres Füllen unmöglich macht. Man läßt daher zweckmäßig mit einer dünn ausgezogenen Pipette einen Tropfen langsam am Rand herunter laufen und füllt dann langsam auf. Weiterhin muß darauf geachtet werden, daß keine Luftblasen eingeschlossen werden, da sonst ein größerer Widerstand im Stromkreis eingeschaltet ist. Sind die großen U-Röhren an Ständern befestigt, so wird in den gebogenen Teil einer jeden Röhre etwas sterile Watte gebracht, um die Entstehung von Wirbelströmen zu vermeiden. Dann werden sie mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt und die Agarröhren so angebracht, daß die Enden etwa 1 bis 1,5 cm in die Flüssigkeit hereintauchen. Die beiden äußeren Schenkel tauchen in zwei Glasgefäße, die mit je 10 ccm einer gesättigten Zinksulfatlösung gefüllt sind.

Diese Schenkel sind doppelt so lang wie diejenigen, die in die U-Röhren tauchen, um ein Herüberwandern der Zinksulfatlösung in die Flüssigkeit der U-Röhren zu vermeiden. Die Gefäße mit der gesättigten Zinksulfatlösung dienen weiterhin der Aufnahme der Elektroden, die aus Zink bestehen. Zu Beginn der Versuche werden dieselben in 10%iger Schwefelsäurelösung gereinigt und dann mit einer Schicht Quecksilberamalgam überzogen. Der Apparat wird mit einem Netzstrom von 118—120 Volt beschickt. In den Stromkreis ist ein Milliampèremeter eingeschaltet, um die jeweilige Stromstärke ablesen zu können. Mit diesem Apparat habe ich zunächst 11 Versuche gemacht. Als Vaccine-Virus verwandte ich sowohl animale wie auch die von Hedwig Herzberg-Kremmer und K. Herzberg seit nunmehr fast 2 Jahren fortgeführte humanisierte Passagelymphe. Die letzgenannte Lymphe, am 6. Tag entnommen, zeigt in der Verdünnung von 1 : 100 nur eine Spur von Opalescenz, zellige Bestandteile fehlen fast ganz. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß sie in der Verdünnung von 1 : 100 noch einen Titer von 1 : 20 000 hat.

Am Ende des Versuches wurden die Agarröhrchen herausgenommen und etwa 1,5 bis 2 cm des Agars mit einem Starmesser herausgeschält. In einen Achatmörser kamen die drei Teile von den positiven Polen, in einen zweiten die der negativen. Der Agar wurde dann mit je 1—2 ccm einer isotonischen Kochsalzlösung zu einer Aufschwemmung zerrieben und nach der oben beschriebenen Art auf die Kaninchencornea verimpft.

1. Versuch.

Humanisierte Lymphe Lynen. Verdünnung 1 : 100 000. 110 Volt; 3,8 Milliampère; 2,5 Stunden Versuchsdauer. Verimpfung des Agars auf

Kaninchen 2225:

rechte Cornea Kathodenagar,
linke Cornea Anodenagar.

Nach 65 Stunden haben sich auf der rechten Cornea (Kathodenagar) deutlich 4 Pockenherde entwickelt. Die linke Cornea dagegen ist völlig blank.

Ergebnis: Kathode virushaltig.

2. Versuch.

Humanisierte Lymphe Lynen. Verdünnung 1 : 20 000. Die NaCl-Lösung wurde mit redestilliertem Wasser hergestellt. 110 Volt; 3,8 Milliampère. Versuchsdauer 3 Stunden. Am Ende des Versuches wurde der Anoden- und Kathodenagar auf ein Kaninchen, die Ausgangslymphe auf ein Kontrollkaninchen verimpft.

Kaninchen 2233:		Resultat nach 48 Stunden
linke Cornea	Anodenagar	0 Herde
rechte Cornea	Kathodenagar	0 Herde

Kaninchen 2232 (Kontrolle):

linke Cornea	40 Herde
rechte Cornea	40 Herde

beiderseits Ausgangslymphe

Ergebnis: Weder Kathode noch Anode virushaltig.

3. Versuch.

Humanisierte Lymphe Dick. Verdünnung 1 : 20 000. In diesem Versuch wurde die Lymphverdünnung mit Phosphat-Pufferlösung vom P_H 6,9 hergestellt.

110 Volt; 3 Stunden Versuchsdauer; zu Anfang des Versuches zeigte das Milliampèremeter 3,4 Milliampère an, ging dann aber während des Versuches auf 2,6 zurück.

Kaninchen 2262:		Resultat nach 40 Stunden
linke Cornea	Anodenagar	0 Herde
rechte Cornea	Kathodenagar	3 Herde

Kaninchen 2296 (Kontrolle):

linke Cornea	2 Herde
rechte Cornea	7 Herde

beiderseits Ausgangslymphe

Ergebnis: Kathode virushaltig.

4. Versuch.

In diesem Versuch verwandte ich animale Lymphe Dresden. Die Verdünnung von 1 : 5000 wurde mit einer Phosphat-Pufferlösung vom P_H 6,9 hergestellt.

110 Volt; 2,5 Stunden Versuchsdauer; während des Versuches ging das Milliampèremeter von 3,2 auf 3,6 Milliampère herauf.

Kaninchen 2318:		Resultat nach 48 Stunden
linke Cornea	Anode	0 Herde
rechte Cornea	Kathode	0 Herde

Kaninchen 2319 (Kontrolle):

linke Cornea	9 Herde
rechte Cornea	6 Herde

beiderseits Ausgangslymphe

Ergebnis: Anode und Kathode kein Virus.

5. Versuch.

Zu diesem Versuch verwandte ich wieder animale Lymphe Dresden, und zwar in der Verdünnung 1 : 2000. Zur Verdünnung wurde Phosphat-Pufferlösung vom P_H 7,0 benutzt.

110 Volt; 1¼ Stunden Versuchsdauer; 4,6 Milliampère. Um zu sehen,ob nicht während des Versuches eine Schädigung der Lymphe durch den elektrischen Strom stattfand, habe ich nach 30 Minuten und nach einer Stunde etwas Flüssigkeit aus den U-Röhren herausgenomen (Mittelflüssigkeit) und corneal verimpft. Der Versuch wurde nach 1¼ Stunde abgebrochen und

dann der Agar und die Ausgangslymphe wie gewöhnlich verimpft.

			Resultat nach 48 Stunden
Kaninchen 2324:			
linke Cornea	Mittelflüssigkeit	1 Std.	9 Herde
rechte Cornea	Mittelflüssigkeit	½ Std.	2 Herde
Kaninchen 2325:			
linke Cornea	Mittelflüssigkeit	1 Std.	17 Herde
rechte Cornea	Ausgangslymphe (Kontrolle)		13 Herde
Kaninchen 2326:			
linke Cornea	Anodenagar		0 Herde
rechte Cornea	Kathodenagar		0 Herde

Ergebnis: Keine Schädigung des Vaccine-Virus. An Anode und Kathode kein Virus.

6. Versuch.

Humanisierte Lymphe Esser. Lymphverdünnung 1 : 20 000. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,0. Versuchsdauer 3 Stunden; 4 Milliampère. Nach 1½ und nach 3 Stunden wurde wiederum etwas Flüssigkeit aus den 3 U-Röhren herausgenommen.

			Resultat nach 48 Stunden
Kaninchen 2311			
linke Cornea	Anodenagar		0 Herde
rechte Cornea	Kathodenagar		1 Herd
Kaninchen 2312:			
linke Cornea	Kathodenagar		1 Herd
rechte Cornea	Mittelflüssigkeit	3 Std.	0 Herde
Kaninchen 2313:			
linke Cornea	Mittelflüssigkeit	1½ Std.	2 Herde
rechte Cornea	Ausgangslymphe (Kontrolle)		8 Herde

Ergebnis: Kathode virushaltig. Schädigung des Virus?

7. Versuch.

In diesem und in den nächsten Versuchen wurde ein Teil der zum Versuch benötigten Ausgangslymphe in den Eisschrank gestellt, wohingegen ein anderer Teil während des Versuches bei Zimmertemperatur stehen blieb, um zu sehen, ob durch die Wärme eine Abschwächung der Lymphe eintrat.

Humanisierte Lymphe Esser. Lymphverdünnung 1 : 20 000. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,0. Versuchsdauer 3 Stunden; 4 Milliampère. Nach 1½ und nach 3 Stunden Entnahme von Mittelflüssigkeit. In diesem Versuch wurde nur der Agar der zwei mittleren Anoden- und Kathodenschenkel verimpft, nicht der Agar der Schenkel, von denen das eine Ende in die gesättigte Zinksulfatlösung tauchte.

			Resultat nach 48 Stunden
Kaninchen 2351:			
linke Cornea	Anodenagar		0 Herde
rechte Cornea	Kathodenagar		0 Herde

Kaninchen 2352:
linke Cornea Mittelflüssigkeit 3 Std. 2 Herde
rechte Cornea Mittelflüssigkeit 1½ Std. 8 Herde
Kaninchen 2353:
linke Cornea Ausgangslymphe (Zimmertemperatur) 25—30 Herde
rechte Cornea Ausgangslymphe (0 Grad) 27 Herde
Ergebnis: Anode und Kathode kein Virus. Verringerung des Virus während der Elektrophorese. Keine Schädigung durch Zimmertemperatur.

8. Versuch.

Normalhirn eines Kaninchens im Mörser mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung zerrieben. Hiervon 1 ccm auf 100 ccm Na Cl Lösung. Diese Menge 100 ccm Na Cl Lösung + 1 ccm Normalhirn, wird 2 Minuten lang bei 1000 Touren ausgeschleudert. Abgegossen und P_H bestimmt. P_H 6,8. Zu dieser Lösung 0,5 ccm humanisierte Lymphe Esser. Mit dieser Flüssigkeit wurden die U-Röhren gefüllt, und der weitere Versuch wickelte sich unter folgenden Bedingungen ab:

3 Stunden Versuchsdauer; 4 Milliampère. Nach 1½ und nach 3 Stunden Entnahme von Mittelflüssigkeit.

Kaninchen 2366: Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Anodenagar 1 Herd
rechte Cornea Kathodenagar 3 Herde
Kaninchen 2367:
linke Cornea Ausgangslymphe (Zimmertemperatur) 14 Herde
rechte Cornea Ausgangslymphe (Frigo) 21 Herde
Kaninchen 2368:
linke Cornea Mittelflüssigkeit 3 Std. 3 Herde
rechte Cornea Mitelflüssigkeit 1½ Std. 12 Herde
Ergebnis: Anode und Kathode virushaltig. Virusabschwächung nach 3 Stunden Elektrophorese?

9. Versuch.

1 ccm Vollblut eines menschlichen Impflings intratestal verimpft. Der Hoden zeigt auf die Injektion hin vom 4. Tage an eine starke Schwellung. Exstirpation am 8. Tag. Der Hoden wurde mit der Schere fein zerkleinert und in 100 ccm Phosphat-Pufferlösung vom P_H 6,8 aufgeschwemmt. Die Flüssigkeit 2 Minuten bei 1000 Touren ausgeschleudert und dann in die U-Röhren gefüllt.

Versuchsdauer 2¾ Stunden; 4,6 Milliampère. Nach 1½ und nach 3 Stunden wiederum Entnahme von Mittelflüssigkeit.

Kaninchen 2369: Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Mittelflüssigkeit 3 Std. 18 Herde
rechte Cornea Mittelflüssigkeit 1½ Std. 16 Herde

Kaninchen 2370:

linke Cornea	Ausgangslymphe (Frigo)	30 Herde
rechte Cornea	Ausgangslymphe (Zimmertemperatur)	20 Herde

Kaninchen 2371:

linke Cornea	Anodenagar	0 Herde
rechte Cornea	Kathodenagar	1 Herd

Ergebnis: Kathode virushaltig. Keine Abschwächung durch Elektrophorese.

10. Versuch.

Zu diesem Versuch benutzte ich eine humanisierte Lymphe, die am Tage vor dem Versuch entnommen worden war. Lymphverdünnung 1 : 20000. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,3. Versuchsdauer 3 Stunden. Stromstärke 4,0 Milliampère.

Die 3 Anoden- und Kathodenagarteile wurden nach 3 Stunden im Mörser mit je 1,5 ccm Na Cl Lösung zerrieben. Die Lymphe wurde nach dem Versuch aus den 3 U-Röhren zusammengegossen und verimpft. Ebenso wurde die Ausgangslymphe verimpft, die 3 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte.

In diesen und dem nächsten Versuch habe ich zum Nachweis des Vaccine-Virus neben der Cornealverimpfung noch die Hautimpfung verwandt.

Kaninchen 3257: Resultat nach 48 Stunden

linke Cornea	Ausgangslymphe	30—40 Herde
rechte Cornea	Ausgangslymphe	30—40 Herde

Bei demselben Kaninchen 3257 Hautimpfung.

Resultat nach

48 Stunden: gerötet,
72 Stunden: fast confluierend,
96 Stunden: confluierende Lapine.

Kaninchen 3308:

Corneal beiderseits Anodenagaraufschwemmung.
Cutan dto.

Resultat nach		
cutan	corneal	
48 Std.: gerötet	links 30 H.	rechts 10 H.
72 Std.: fast confluierend	links 30 H.	rechts 22—25 H.

Kaninchen 3250: Resultat nach 48 u. 72 Stunden

linke Cornea	0	0 Herde
rechte Cornea	0	1 Herd

beiderseits Kathodenagar

Bei demselben Kaninchen (3250) wurden an jeder Seite 2 Stellen zur Hautverimpfung gerupft und wie folgt beimpft:

linke Seite	Resultat nach 48 Std.	96 Std.
1. Stelle Anodenagar	gerötet	12 Herde
2. Stelle Kathodenagar	gerötet	2 Herde

rechte Seite	Resultat nach 48 Std.	96 Std.
1. Stelle Ausgangslymphe	gerötet	40 Herde
2. Stelle zusammengegossene elektrophoresierte Lymphe	gerötet	40—45 Herde

Kaninchen 3260:
Corneal beiderseits zusammengegossene elektrophoresierte Lymphe.
Cutan dto.

	Resultat nach	
	cutan	corneal
48 Std.:	gerötet	links 20—25 H. rechts 7 H.
72 Std.:	fast confluierend	links 20—25 H. rechts 20 H.

Ergebnis: Anode und Kathode virushaltig, Anode stärker als Kathode. Keine Virusabschwächung durch Elektrophorese. Haut und Cornealwerte übereinstimmend.

11. Versuch.

Lymphe Nauen in der Verdünnung von 1 : 45000. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,1. Versuchsdauer 3 Stunden. 4,6 Milliampère. Die Verimpfung geschah folgendermaßen:

Kaninchen 3344:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea	0 Herde
rechte Cornea	0 Herde
je 0,05 ccm Kathodenagar	
linke Seite, je 0,1 ccm cutan	
1. Stelle Anodenagar	2 Herde
2. Stelle elektrophoresierte Lymphe (nach dreistündigem Versuch zusammengegossen)	5 Herde
3. Stelle Ausgangslymphe	5 Herde
rechte Seite, 0,2 cm nur Kathodenagar	0 Herde

Kaninchen 3345:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea	0 Herde
rechte Cornea	0 Herde
je 0,05 ccm Kathodenagar	
linke Seite je 0,1 ccm	
1. Stelle Anodenagar	20 Herde
2. Stelle elektrophoresierte Lymphe	confluierende Lapine
3. Stelle Ausgangslymphe	fast confluierend
rechte Seite	
nur Kathodenagar	0 Herde

Ergebnis: Kathode corneal und cutan kein Virus. Anode cutan: Virus; corneal: keine Abschwächung durch Elektrophorese. Kaninchen 3344 reagierte stärker auf Vaccine-Virus als Kaninchen 3345.

Fassen wir die Ergebnisse, die sich aus dieser Versuchsreihe mit dem Apparat von Olitsky und Long ergeben haben, zusammen, so ergibt sich folgendes:

Es wurde Virus gefunden:

I. 1 mal nur an der Anode (Versuch 11),
II. 4 mal nur an der Kathode (Versuche 1, 3, 6, 9),
III. 2 mal zusammen an der Anode und der Kathode (Versuche 8 und 10),
IV. 4 mal weder an der Anode noch an der Kathode (Versuche 2, 4, 5, 6).

Aus diesen wechselnden Resultaten ersieht man, daß der Apparat von Olitsky und Long zur Bestimmung der Wanderungsrichtung des Vaccine-Virus nicht geeignet ist. Hauptsächlich sind es konstruktive Mängel, die diese wechselnden Resultate bedingen; denn die Agarröhren tauchen schon zu Beginn des Versuches in eine virushaltige Flüssigkeit und ein Haftenbleiben von Virusteilchen bei Herausnahme der Röhren ist, wie schon eingangs betont wurde, sehr leicht möglich.

Aus den Versuchen ist weiterhin ersichtlich, daß die elektrophoresierte Flüssigkeit, die am Ende des Versuches zusammengegossen und in derselben Weise wie die Agaraufschwemmung verimpft wurde, mehr Virus enthielt, als der Agar an den Polen. Die Elektrophorese führt also nicht zu einer Anreicherung des Virus an einem der Pole. Die Frage der Schädigung des Virus durch die Elektrophorese während des Versuchs ist noch nicht geklärt. Hier müßten noch weitere Untersuchungen angestellt werden.

Versuche mit dem Todd'schen Apparat.

Der Elektrophorese-Apparat nach Todd besteht aus einem U-förmig gebogenen Glas-Rohr von 15 mm lichter Weite. Der horizontale Ast und 2,8 cm der unteren vertikalen Aeste sind auf 8 mm lichte Weite verjüngt. In der Mitte des horizontalen Astes befindet sich ein Hahn mit zentraler Bohrung, die etwa 0,5 ccm faßt. An dieser Stelle geht ein dritter vertikaler Ast nach oben ab, durch den das Virus in die Hahnbohrung eingeführt wird. Der Hahn kann also so gedreht werden, daß er entweder mit dem mittleren vertikalen Schenkel allein oder mit den beiden Seitenschenkeln in Verbindung steht.

Die positive Elektrode besteht aus einem dünnen Streifen Silberblech, die negative aus einem Streifen Kupfer, der vor jedem Versuch mit einer dünnen, gleichmäßigen Schicht Paraffin überzogen wird. Nur der unterste Teil dieses Ueberzuges, etwa ½ cm, wird nach der Paraffinierung entfernt, um die Verbindung mit der Salzlösung, in die die Elektrode taucht, herzustellen. Das Silber- und das Kupferblech tauchen je in ein etwa

10 ccm fassendes mit 8 ccm Wasser gefülltes Reagenzglas. In das Anodengläschen (Silberblech) wird ½ g Na Cl, in das Kathodengläschen (Kupferblech) 0,2 g Cu Cl_2 geschüttet. Die Verbindung zwischen den beiden Seitenschenkeln des Todd'schen Apparates und den Elektrodenbehältern stellen die gleichen Agarröhrchen dar, wie sie schon beim Apparat von Olitsky und Long benutzt wurden.

Bei horizontal gestelltem Hahn wurden die beiden Seitenschenkel mit einer 0,85%igen Kochsalzlösung oder einer Phosphat-Pufferlösung von bestimmter Wasserstoffionenkonzentration gefüllt, danach der Hahn vertikal gestellt und die Flüssigkeit in der centralen Bohrung mittels Kapillare entfernt. In den horizontalen Teil eines jeden Schenkels wurde vorher etwas sterile Watte gebracht. Dann wurde mittels Agarröhrchen die Verbindung zu den Metall-Elektroden hergestellt und zwar so, daß die kurzen Schenkel etwa 1—1,5 cm in die Flüssigkeit des Todd'schen Apparates hereinragten. Die 3 Oeffnungen des Todd'schen Apparates wurden mit steriler Watte verschlossen, um eine Verunreinigung von außen während des Versuches zu vermeiden.

Hierauf wurde in die Hahnbohrung die zu untersuchende Lymphe mit einer dünnen, lang ausgezogenen Kapillare gebracht. Danach wurde der Mittelschenkel wieder mit einem Wattepfropf verschlossen. Nachdem man sich überzeugt hatte, daß keine Luftblasen eingeschlossen waren, wurde der Hahn um 90 Grad gedreht, und so die Verbindung zwischen positivem und negativem Schenkel hergestellt. In den Stromkreis war bei allen Versuchen ein Milliampèremeter eingeschaltet.

Auch bei diesen Versuchen benutzte ich die humanisierte Passagelymphe, also eine Lymphe, deren Titer und Konzentration mir bekannt waren.

Die Versuche mit dem Todd'schen Apparat haben gleichmäßige Resultate ergeben und lassen bezüglich „Wanderung und Anreicherung" bessere Schlüsse zu als die Versuche mit dem Apparat von Olitsky und Long. Olitsky, Rhoads und Long erkennen die bereits weiter vorn geschilderte Fehlerquelle ihres Apparates auch selbst an, nämlich bei den Versuchen über Poliomyelitis. Beim Todd'schen Apparat tauchen die Agarröhren in Vaccinevirusfreie Kochsalz- oder Pufferlösung. Die Lymphe, die sich in der Hahnöffnung befindet, ist im Beginn des Versuches gleich weit vom positiven wie vom negativen Pole entfernt. Der elektrischen Ladung folgend müßte sie also am Ende des Versuches entweder nur an der Anode oder nur an der Kathode nachzuweisen sein.

Von 13 mit diesem Apparat ausgeführten Versuchen dienten die 2 ersten der Frage, ob auch hier eine Verringerung der Virusmenge in der elektrophoresierten Flüssigkeit stattfindet, ohne eine entsprechende Anreicherung an den Polen. Die restlichen

11 Versuche dienten zur Bestimmung des Wanderungssinnes des Vaccine-Virus bei verschiedenem P_H.

1. Versuch.

Die beiden Seitenschenkel des Apparates wurden mit je 8 ccm einer humanisierten Lymphe in der Verdünnung 1 : 20 000 gefüllt. 110 Volt; 4 Milliampère; 2,5 Stunden Versuchsdauer. Am Ende des Versuches wurde die Elektrophoreseflüssigkeit aus dem Anoden- und Kathodenschenkel zusammengegossen und auf jede Cornea 0,05 ccm davon verimpft. (Agar wurde nicht verimpft).

Kaninchen 2386:
linke Cornea
rechte Cornea
je 0,05 ccm der aus dem Anoden- und Kathodenschenkel nach dreistündiger Elektrophorese zusammengegossenen Lymphe.

Nach 72 Stunden haben sich auf der rechten Cornea 7, auf der linken 8 Herde entwickelt.

Auf ein Kontrolltier wurde die Originallymphe (nicht elektrophoresiert) verimpft.

Kaninchen 2387:
linke Cornea
rechte Cornea
je 0,05 ccm Originallymphe

Resultat nach 72 Stunden: links 13, rechts 16 Herde. Nach 2,5-stündiger Elektrophorese ist also eine Verminderung der Viruszahl auf etwa die Hälfte eingetreten.

2. Versuch.

Wiederum je 8 ccm in die Seitenschenkel und zwar der Lymphe Keller in der Verdünnung von 1 : 10 000.

110 Volt; 4,6 Milliampère; 3 Stunden Versuchsdauer. Bei diesem Versuch wurde auch der Anoden- und Kathodenagar verimpft. Sonst alles wie im vorigen Versuch.

		Resultat nach 72 Stunden
Kaninchen 2287:		
linke Cornea	Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea	Anodenagar	0 Herde
Kaninchen 2288:		
linke Cornea	elektrophoresierte Lymphe	12 Herde
rechte Cornea	Originallymphe	16 Herde
Kaninchen 2289:		Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea	elektrophoresierte Lymphe	10 Herde
rechte Cornea	Originallymphe	18—20 Herde

Auch in diesem Versuch ist eine Verringerung der Viruszahl um fast die Hälfte festzustellen.

Aus diesen beiden Versuchen glaubte ich zuerst auf eine Schädigung des Virus durch die Elektrophorese schließen zu dürfen. Nach neueren Untersuchungen von K. Herzberg ist es aber sicher, daß der elektrische Strom das Vaccine-Virus unter den hier eingehaltenen Bedingungen nicht schädigt, so daß andere Einflüsse die Virusverringerung in meinen Versuchen hervorgerufen haben müssen (Licht? Metallsatzspuren?)

Versuche zur Bestimmung des Wanderungssinnes des Vaccine-Virus bei verschiedenen P_H.

Bei diesen Versuchen wurde nur die Hahnbohrung des Todd'schen Apparates mit 0,5 ccm der jeweiligen Lymphe gefüllt. Die beiden Seitenschenkel dagegen wurden mit je 10 ccm einer Phosphat-Pufferlösung von verschiedenem P_H gefüllt. Von derselben Lösung kamen je 8 ccm in die beiden Elektrodenbehälter.

1. Versuch.

Humanisierte Lymphe Schulz, Verdünnung 1 : 100; Titer 1 : 20 000. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,1.

110 Volt; 4,6 Miliampère; 2,5 Stunden Versuchsdauer. Am Ende des Versuches wurde der Anoden- und Kathodenagar corneal verimpft.

Kaninchen 3127:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Anodenagar	15—18 Herde

Ergebnis: Virus nur an der Anode.

2. Versuch.

Humanisierte Lymphe Schulz, Verdünnung 1 : 100; Titer 1 :20 000; Phosphat-Pufferlösung P_H 7,7.

110 Volt; 4,6 Milliampère; 2,5 Stunden Versuchsdauer. Der Versuch erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie der vorherige, nur daß die Wasserstoffionenkonzentration der Phosphat-Pufferlösung eine andere war. Der Anoden- und Kathodenagar wurde wiederum corneal verimpft und zwar in der gleichen Weise auf zwei verschiedene Kaninchen.

Kaninchen 2870:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Anodenagar	0 Herde
Kaninchen 2871:	
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Anodenagar	0 Herde

Ergebnis: Virus weder an der Anode noch an der Kathode.

Wie weiter unten zu ersehen ist, erhielt ich in dieser Versuchsreihe noch einmal ein völlig negatives Ergebns. Der Grund für diese beiden Versager liegt in einem Versuchsfehler begrün-

det. Zu Beginn des Versuches wurde nämlich der Hahn des T o d d 'schen Apparates mit einer dünnen Vaselineschicht überzogen, um ein leichtes Oeffnen und Schließen desselben zu ermöglichen. Hierbei hat sich vielleicht ein Vaselinehäutchen über die beiden Oeffnungen gelegt, welches die Lymphe am Austritt aus der Hahnbohrung verhinderte.

3. Versuch.

Wiederum humanisierte Lymphe Schulz, Verdünnung 1 : 100; Titer 1 : 20 000; Phosphat-Pufferlösung P_H 7,1.

110 Volt; 4,8 Milliampère; 3 Stunden Versuchsdauer.

Kaninchen 3156:	Resultat nach 48 Stunden
linke Cornea Anodenagar	3 Herde
rechte Cornea Anodenagar	3 Herde
Kaninchen 3157:	
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Kathodenagar	0 Herde

E r g e b n i s : Virus nur an der Anode.

4. Versuch.

Humanisierte Lymphe Schröder, Passage 50, in der Verdünnung 1 : 100. Phosphat-Pufferlösung P_H 6,2.

110 Volt, 4,2 Miliampère; 2¼ Stunde Versuchsdauer. Am Ende des Versuches wurde der im Achatmörser zerriebene Agar wiederum corneal verimpft. Wie im 3. Versuch bei einem Kaninchen nur der Anodenagar, beim anderen der Kathodenagar.

Kaninchen 3166:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Anodenagar	4 Herde
rechte Cornea Anodenagar	5 Herde
Kaninchen 3165:	
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Kathodenagar	0 Herde

E r g e b n i s : Virus nur an der Anode.

5. Versuch.

Humanisierte Lymphe Schulz. Verdünnung 1 : 100; Titer 1 : 20 000. Phosphat-Pufferlösung P_H 8,1.

110 Volt; 2,5 Stunden Versuchsdauer; zu Anfang des Versuches zeigte das Milliampère 5,5 an, am Ende nur noch 4,2 Milliampère.

In diesem Versuch habe ich auch den Agar auf die Haut verimpft und zwar in der oben beschriebenen Weise.

Kaninchen 3176:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Anodenagar	0 Herde
rechte Cornea Anodenagar	0 Herde
Hautverimpfung	0 Herde

Kaninchen 3177:

linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Kathodenagar	0 Herde
Hautverimpfung	0 Herde

(Derselbe Versuchsfehler wie in Versuch 2).

6. Versuch.

Humanisierte Lymphe Steinfels, Verdünnung 1 : 100. Phosphat-Pufferlösung P_H 8,1.

110 Volt; 2,5 Stunden Versuchsdauer; 4,4 Milliampère, geht zurück auf 3,9.

Kaninchen 3189:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Anodenagar	1 Herd
rechte Cornea Anodenagar	3—4 Herde
Hautverimpfung	30—35 Herde

Corneal wurden wie üblich 0,05 ccm verimpft, auf die geritzte Haut dagegen 1 ccm, also das 20fache. Nimmt man als Mittel der Cornealverimpfung 2 Herde, so stimmen die Ergebnisse der Corneal- und Hautverimpfung überein.

Kaninchen 3190:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Kathodenagar	0 Herde
Hautverimpfung Kathodenagar	1 Herd

In diesem Versuch ergibt die corneale Verimpfung des Kathodenagars ein völlig negatives Ergebnis, während die Hautverimpfung positiv ausfällt. Um völlig sicher zu gehen, daß der eine Herd auch wirklich ein Pockenherd war, wurde Kaninchen 3190 nach Abheilung der Pustel einem Immunitätsversuch unterworfen. Es zeigte sich, daß das Tier immun war.

Ergebnis: Virus an Anode und Kathode. An der Anode bedeutend mehr.

7. Versuch.

Humanisierte Lymphe Steinfels, Verdünnung 1 : 100. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,9.

110 Volt; 2,5 Stunden Versuchsdauer; 4,6 Milliampère.

Kaninchen 3205:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Anodenagar	8 Herde
rechte Cornea Anodenagar	3 Herde
Hautverimpfung Anodenagar	sehr kräftige Lapine, zum Teil confluierend

Kaninchen 3206:

linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Kathodenagar	0 Herde
Hautverimpfung Kathodenagar	1 Herd

Die Hautverimpfung ergab also wiederum einen Herd, während die Hornhäute negativ blieben.

Ergebnis: Viel Virus an der Anode. Spur Virus an der Kathode.

8. Versuch.

Humanisierte Lymphe Steinfels, Verdünnung 1 : 100. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,8.

110 Volt; 3 Stunden Versuchsdauer; zu Anfang des Versuches 7,5 Milliampère, während des Versuches zurück auf 7,0. Der Versuch unterscheidet sich insofern von den anderen, als die Elektrodenbehälter statt mit Phosphat-Pufferlösung mit je 8 ccm redestilliertem Wasser gefüllt wurden, dazu 0,5 g Na Cl bezw. 0,2 g $CuCl_2$. Sonst alles wie bei den vorherigen Versuchen.

Kaninchen 3227:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Anodenagar	11 Herde
rechte Cornea Anodenagar	12 Herde

Die Hautverimpfung des Anodenmaterials geschah bei diesem Kaninchen an 2 verschiedenen Stellen, und zwar wurde auf eine Stelle 0,07 ccm, auf die andere das 4fache 0,28 ccm verimpft. An der Stelle mit 0,28 ccm trat nach 72 Stunden eine starke Konfluenz auf, an der mit 0,07 ccm fast eine Konfluenz.

Kaninchen 3228:	
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Kathodenagar	0 Herde
Hautverimpfung Kathodenagar	1 Herd

Beim nachfolgenden Immunitätsversuch zeigt sich Kaninchen 3228 immun.

Ergebnis: Viel Virus an der Anode, Spur Virus an der Kathode.

9. Versuch.

Humanisierte Lymphe Hillesheim, Verdünnung 1 : 100. Phosphat-Pufferlösung P_H 6,6.

110 Volt; 4 Milliampère; 3 Stunden Versuchsdauer. In den beiden Elektrodenbehältern wieder je 8 ccm redestilliertes Wasser.

Das Kaninchen (3229), auf welches der Anodenagar sowohl corneal als auch auf die Haut verimpft wurde, war am nächsten Tag eingegangen. Die Verimpfung des Kathodenagars auf Kaninchen 3230 ergab für beide Methoden ein negatives Ergebnis.

10. Versuch.

Humanisierte Lymphe Hillesheim, Verdünnung 1 : 100. Phosphat-Pufferlösung P_H 6,1.

110 Volt; 6 Milliampère; 2,5 Stunden Versuchsdauer. Der Versuch unterscheidet sich insofern von den anderen, als die Anoden- und Kathodenagaraufschwemmung nur auf die Haut verimpft wurde.

Kaninchen 3244:	Resultat nach 72 Stunden
Hautverimpfung Anodenagar (0,2 ccm)	schwache Konfluenz

Kaninchen 3243:
Hautverimpfung Kathodenagar (0,3 ccm) 0 Herde
Kaninchen 3245:
Hautverimpfung Anodenagar (0,25 ccm) schwache Konfluenz
Ergebnis: Virus nur an der Anode.

11. Versuch.

Humanisierte Lymphe Hillesheim, Verdünnung 1 : 100. Phosphat-Pufferlösung P_H 7,1.

110 Volt; 5,2 Milliampère; 2¾ Stunden Versuchsdauer. In diesem Versuch wurde der Agar wieder corneal und cutan verimpft.

Kaninchen 3254:	Resultat nach 72 Stunden
linke Cornea Kathodenagar	0 Herde
rechte Cornea Kathodenagar	0 Herde
Hautverimpfung Kathodenagar (0,15 ccm)	0 Herde
Kaninchen 3255:	
linke Cornea Anodenagar	20 Herde
rechte Cornea Anodenagar	20 Herde
Hautverimpfung Anodenagar	16 Herde

Ergebnis: Virus nur an der Anode.

Diese 11 mit dem Todd'schen Apparat ausgeführten Versuche ergeben eine deutliche anodische Wanderung in dem P_H-Bereich 6,1—8,1. Bei den Versuchen wurde die Hahnbohrung des Apparates mit 0, 5 ccm einer Lymphe vom Titer 1 : 20 000 gefüllt. Diese Virusmenge würde, selbst wenn man sie nur gleichmäßig in den 8 ccm verteilt, die der Anodenschenkel faßt, für 0,1 ccm einen Titer von 1 : 1250 ergeben. In 5 Versuchen erhielten wir aber mit dem Anodenagar sowohl corneal wie cutan nur 20—30 Vaccine-Herde, also nur einen Bruchteil. Dieser Befund spricht nicht dafür, daß man die Elektrophorese zur Auffindung von Virusspuren mit Vorteil verwendet.

Fassen wir die Ergebnisse aus dieser Versuchsreihe zusammen, so ergibt sich:

1. Das Vaccine-Virus wandert vorwiegend anodisch. Gelegentlich finden sich Spuren an der Kathode, ohne daß Versuchsfehler hierfür verantwortlich gemacht werden können.

2. Zahlenmäßig findet sich nur wenig des der Elektrophorese unterworfenen Virus an der Anode. Zu einer Anreicherung kommt es keinesfalls. Die Elektrophoreseflüssigkeit bleibt auch nach 3stündigem Versuch immer virusreicher als der Anodenagar.

3. Zur quantitativen Prüfung der Agarpole auf Virus ist die cutane Methode am zweckmäßigsten. Die corneale Verimpfung zeigt zu schwach an, wahrscheinlich infolge Inhomogenität des Impfmaterials, und die intratestale Verimpfung gibt keine Vorstellung, wieviel in der Elektrophoreseflüssigkeit vorhanden ist.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den Resultaten, die bisher von anderen Autoren vorliegen, so zeigt sich, daß Lépine mit dem Apparat von Olitsky dieselben wechselnden Resultate wie ich erhalten hat.

Außer von Lépine wird auch von Nicolau und Kopciowska der Olitsky'sche Apparat nach Versuchen mit Herpes-Virus als unbrauchbar abgelehnt.

Ueber die Mengen des gewanderten Virus liegen nur ungenaue Angaben vor. Aus der Arbeit von Jaoi und Kasai geht hervor, daß nicht alles Virus zur Anode hinwandert, und Nicolau und Kopciowska fanden bei ihren Heperversuchen, daß stets Virus im zentralen Teil des Apparates nachweisbar ist.

Eine **Titerbestimmung** vor und nach der Elektrophorese einschließlich Bestimmung des Virusgehaltes der Agarpole, wie ich sie versucht habe, fehlt in den bisher vorliegenden Arbeiten ganz, obwohl gerade die quantitativen Untersuchungen notwendig sind, um den Wert der Elektrophorese für den Nachweis von Virusspuren beurteilen zu können. Mit Gewebsaufschwemmungen (Neurolapine), wie sie die amerikanischen, englischen und französischen Autoren benutzten, habe ich nicht gearbeitet.

Der Nachweis von Vaccine-Virus im abgeheilten Immuntier. (Organversuche)

Meine Versuche unterscheiden sich in 3 Punkten von denen von Olitsky und Long. 1. habe ich meine Kaninchen mit gewöhnlicher Lymphe und nicht mit Neuro-Lapine immunisiert. Da Olitsky und Long aber ein allgemeines Gesetz über die Immunität aus ihren Versuchen ableiten, darf der Vaccine-Virus-Nachweis beim immunen Tier nicht auf die Neuro-Lapine beschränkt sein. 2. wurden bei jedem Versuch die Organe mehrerer Kaninchen dem Elektrophoreseversuch unterworfen und 3. wurden nur innere Organe untersucht, nicht dagegen die exzidierte Haut.

Die Kaninchen, die zu einem Versuch benötigt wurden, wurden sämtlich durch Halsschnitt entblutet. Hierauf wurden

nach steriler Eröffnung der Bauchhöhle die jeweiligen Organe herausgenommen und mit einer Schere in einer Glasschale fein zerkleinert. Der Organbrei wurde daraufhin in einem Achatmörser mit sterilem Quarzsand etwa 5 Minuten lang zerrieben und dann mit 100 ccm 0,85% Kochsalzlösung zu einer homogenen Masse aufgeschwemmt. Nach Zentrifugieren der Aufschwemmung wurden die 3 U-Röhren des Apparates von Olitsky und Long mit der überstehenden Flüssigkeit gefüllt, und der weitere Versuch wickelte sich unter denselben Bedingungen ab, wie bei den Versuchen zur Bestimmung des Wanderungssinnes des Vaccine-Virus. Die Verimpfung des Anoden- und Kathodenagars erfolgte nach der Methode von Othawara und zwar folgendermaßen: von dem mit 2—2,5 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung zerriebenen Agar wurden etwa je 1 ccm getrennt intratestal verimpft. Nach 8—10 Tagen wurden die Hoden herausgenommen und in einer Schale mit einer Schere fein zerschnitten, der Hoden mit dem verimpften Anodenagar für sich, ebenso der mit dem Kathodenagar. Von diesem Organbrei wurde dann etwas auf jede Cornea des kastrierten Kaninchens verimpft. Nach 48—72 Stunden zeigte sich daraufhin, ob das verimpfte Material virushaltig war oder nicht (Fluoresceinversuch).

1. Versuch.

Kaninchen 2079 — geimpft am 20. 5. 30. Von diesem Kaninchen wurden am 17. 10. 30 die Milz, die linke Nebenniere und die beiden Ovarien entfernt, um auf ihren Gehalt auf Virus nachgeprüft zu werden. Die 4 Organe wurden zusammen mit einer Schere zerkleinert, mit 3—4 g Quarzsand zerrieben und mit 100 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung vom P_H 7,1 zu einer Suspension aufgeschwemmt. Nach Zentrifugieren (4 Minuten lang bei 1500 Touren) Einfüllen in den Apparat nach Olitsky und Long.

110 Volt; 3¼ Stunde Versuchsdauer; 3,9 Milliampère. In diesem Versuch ist nur der Kathodenagar und die Originalaufschwemmung verimpft worden, nicht aber der Anodenagar.

Kaninchen 3105:
linker Hoden
rechter Hoden
je 1,5 ccm Originalaufschwemmung

Kaninchen 3106:
linker Hoden
rechter Hoden
beiderseits je 1,5 ccm Kathodenagar

Nach 7 Tagen, am 24. 10., zeigen die Hoden makroskopisch keine Veränderung. Sie werden entfernt, getrennt in einer Schale zerkleinert, und auf die rechte bezw. linke Cornea desselben Kaninchens verimpft.

		Resultat nach 72 Stunden
Kaninchen 3105:		
linke Cornea	linker Hoden	0 Herde
rechte Cornea	rechter Hoden	0 Herde
Kaninchen 3106:		
linke Cornea	linker Hoden	0 Herde
rechte Cornea	rechter Hoden	0 Herde

2. Versuch. (26. 11. 30).

Kaninchen 3107: geimpft am 20. 10. 30.
Kaninchen 3114: geimpft am 24. 10. 30.

Zum Elektrophoreseversuch wurden von den beiden Kaninchen verwandt die Ovarien, die linke Nebenniere und die Milz.

Die Organe wurden wiederum mit der Schere zerkleinert, im Mörser mit ausgeglühtem Quarzsand zerrieben und mit 100 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Zentrifugieren, 5 Minuten bei 2000 Touren.

110 Volt; 2,5 Stunden Versuchsdauer; 4,0 Milliampère, geht während des Versuches herauf auf 4,3 Milliampère.

Am Ende des Versuches wurde der Anoden- und Kathodenagar getrennt mit je 3,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung zerrieben und getrennt je 1,0 ccm intratestal verimpft.

Kaninchen 3172:
linker Hoden
rechter Hoden
je 1,5 ccm Kathodenagaraufschwemmung

Kaninchen 3173:
linker Hoden
rechter Hoden
je 1,5 ccm Anodenagaraufschwemmung

Am 4. 12. 30, nach 8 Tagen, zeigen die Hoden äußerlich keine Veränderung. Daraufhin wurden vom Kaninchen 3172 beide Hoden entnommen und zusammen mit der Schere zerkleinert und corneal verimpft. Ebenso bei Kaninchen 3173.

	Resultat nach 72 Stunden
Kaninchen 3172:	
linke Cornea	0 Herde
rechte Cornea	0 Herde
Hodenmaterial (3172)	
Kaninchen 3173:	
linke Cornea	0 Herde
rechte Cornea	0 Herde
Hodenmaterial (3173)	

3. Versuch.

In diesem Versuch verwandte ich die Organe von 3 Kaninchen, und zwar:

Kaninchen 3116: geimpft am 24. 10. 30
Milz und linke Nebenniere

Kaninchen 3117: geimpft am 24. 10. 30
Milz, 2 Hoden und linke Nebenniere

Kaninchen 3115: geimpft am 24. 10. 30
Milz, 2 Hoden und linke Nebenniere

Die Organe der 3 Kaninchen wurden zusammen zerkleinert, im Mörser zerrieben, mit 100 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 10 Minuten bei 3000 Touren ausgeschleudert.

110 Volt; 2¼ Stunde Versuchsdauer; 3,7 Milliampère.

Kaninchen 3184:
linker Hoden Kathodenagaraufschwemmung
rechter Hoden Kathodenagaraufschwemmung

Kaninchen 3185:
linker Hoden Anodenagaraufschwemmung
rechter Hoden Anodenagaraufschwemmung

Am 11. 12. 30, nach 9 Tagen, ist an den Hoden wiederum keine Veränderung sichtbar. Daraufhin wiederum corneale Verimpfung wie beim vorherigen Versuch.

		Resultat nach 72 Stunden
Kaninchen 3184:		
linke Cornea	linker Hoden (3184)	0 Herde
rechte Cornea	rechter Hoden (3184)	0 Herde
Kaninchen 3185:		
linke Cornea	linker Hoden (3185)	0 Herde
rechte Cornea	rechter Hoden (3185)	0 Herde

4. Versuch (22. 12. 20).

Kaninchen 3104: geimpft am 17. 10. 30
Milz und 2 Hoden

Kaninchen 3146: geimpft am 7. 11. 30
Milz, Ovarien und Stück linke Niere

Kaninchen 3123: geimpft am 29. 10. 30
Milz, 2 Hoden und Stück linke Niere

Der Versuch unterscheidet sich insofern von den anderen, als wir hier ein Stück Niere auf ihren Gehalt an Vaccine-Virus untersuchten. Sonst alles wie beim letzten Versuch, nur daß die Organaufschwemmung 5 Minuten bei 2000 Touren ausgeschleudert wurde.

110 Volt; 2¼ Stunde Versuchsdauer; 3,5 Milliampère. Am Ende des Versuches wurde der Agar der 3 Anoden- und 3 Kathodenschenkel mit je 2 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung im Mörser zerrieben und hiervon 0,8 ccm in jeden Hoden verimpft. Das Ausgangsmaterial (nicht elektrophoresiert) wurde in diesem Versuch ebenfalls verimpft.

Kaninchen 3198:
linker Hoden
rechter Hoden
Ausgangsmaterial

Kaninchen 3212:
linker Hoden
rechter Hoden
Kathodenagaraufschwemmung
Kaninchen 3213:
linker Hoden
rechter Hoden
Anodenagaraufschwemmung

Am 29. 12. 20, nach 7 Tagen, bei allen 3 Kaninchen keine Hodenveränderung; sie werden entfernt, zerkleinert und corneal verimpft.

		Resultat nach 72 Stunden
Kaninchen 3198:		
linke Cornea	Hodenmaterial (3198)	0 Herde
rechte Cornea	Hodenmaterial (3198)	0 Herde
Kaninchen 3212:		
linke Cornea	Hodenmaterial (3212)	0 Herde
rechte Cornea	Hodenmaterial (3212)	0 Herde
Kaninchen 3213:		
linke Cornea	Hodenmaterial (3213)	0 Herde
rechte Cornea	Hodenmaterial (3213)	0 Herde

5. Versuch (23. 12. 30).

Es wurden wieder die Organe von 3 Kaninchen zusammen auf ihren Gehalt an Virus geprüft. Bei den 3 Kaninchen lag der Tag der Impfung erst 4 Wochen zurück und alle drei Tiere zeigten noch Spuren von Schorf an den Hautimpfstellen.

Kaninchen 3169: geimpft am 26. 11. 30 Ovarien und Milz.
Kaninchen 3174: geimpft am 27. 11. 30 Milz und 2 Hoden.
Kaninchen 3175: geimpft am 27. 11. 30 Ovarien und Milz.

110 Volt; 3,7 Milliampère, 2,5 Stunden Versuchsdauer.

Am Ende des Versuches wurde der Anoden- und Kathodenagar mit je 2,5 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung zerrieben und intratestal verimpft, ebenso das während 2,5 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassene Ausgangsmaterial.

Kaninchen 3214:
linker Hoden
rechter Hoden
Ausgangsmaterial
Kaninchen 3215:
linker Hoden
rechter Hoden
Kathodenagaraufschwemmung
Kaninchen 3216:
linker Hoden
rechter Hoden
Anodenagaraufschwemmung

Am 31. 12. 30, nach 8 Tagen, zeigen alle 3 Kaninchen keine Hodenschwellung. Entnahme und corneale Verimpfung genau wie beim vorhergehenden Versuch.

	Resultat nach 72 Stunden
Kaninchen 3214:	
linke Cornea	0 Herde
rechte Cornea	0 Herde
Hodenmaterial (3214)	
Kaninchen 3215:	
linke Cornea	0 Herde
rechte Cornea	0 Herde
Hodenmaterial (3215)	
Kaninchen 3216:	
linke Cornea	0 Herde
rechte Cornea	0 Herde
Hodenmaterial (3216)	

6. Versuch (22. 1. 31).

Kaninchen 3203: geimpft am 17. 12. 30
beide Nebennieren, Milz und lk. Ovar

Kaninchen 3176: geimpft am 9. 12. 30
Milz, 2 Hoden und linke Nebenniere.

Die aus diesen Organen erhaltene Aufschwemmung wurde 3 Minuten lang bei 1500 Touren ausgeschleudert.

110 Volt; 4,1 Milliampère; 3 Stunden Versuchsdauer.

Am Schlusse dieses Versuches wurde der Anoden- und Kathodenagar mit je 2,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung zerrieben und intratestal verimpft.

Kaninchen 3263:
linker Hoden
rechter Hoden
Ausgangsmaterial (nicht elektrophoresiert, 3 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden)

Kaninchen 3264:
linker Hoden
rechter Hoden
Kathodenagaraufschwemmung

Kaninchen 3265:
linker Hoden
rechter Hoden
Anodenagaraufschwemmung

Nachschau nach 8 Tagen, am 30. 1. 31.

Kaninchen 3263:	unverdächtig;	Hoden verimpft auf beide Augen negativ
Kaninchen 3264:	unverdächtig;	Hoden verimpft auf beide Augen negativ
Kaninchen 3265:	unverdächtig;	Hoden verimpft auf beide Augen negativ

Zusammenfassendes Ergebnis

der vorstehend geschilderten Versuche über die Beziehung zwischen Virusgehalt der Organe und Immunität des gleichen Tieres:

An 14 Kaninchen, deren Organe 1 bis 5 Monate nach der Vaccine-Virus-Infektion dem Elektrophoreseversuch unterworfen wurden, ließ sich die Angabe von Olitsky und Long, daß aus den Organen vaccineimmuner Kaninchen Vaccine-Virus durch Elektrophorese freigemacht werden könne, nicht bestätigen. Gleichfalls negative Ergebnisse hatten Levaditi, Lépine, Nicolau und Kopciowska bei der Elektrophorese der Hirne von Tieren, die eine Poliomyelitis-, Herpes- und Wut-Infektion überlebt hatten. Demnach ist es bisher in keiner der Nachprüfungen gelungen, aus Vaccine-, Poliomyelitis- oder Herpesimmuntieren den lebenden Erreger durch Elektrophorese zu isolieren, so daß die Erklärung, die Olitsky und Long für die Immunität bei diesen Erkrankungen geben, vorläufig als unwahrscheinlich bezeichnet werden muß.

SCHRIFTTUM.

1) K. Herzberg: Zentralb l.f. Bakt. Abt. I. Orig.Bd. 105, S. 67, 1927.
2) Jaoi, Hidetake und Hisao Kasai: Zentralbl. f. ges. Hygiene, Bd. 20, S. 848, 1929 (Referat von E. Paschen).
3) P. Lépine: Comptes Rendus*), Bd. 104, S. 385, 1930.
4) P. Lépine: Comptes Rendus, Bd. 105, S. 282, 1930.
5) C. Levaditi et P. Lépine: Comptes Rendus, Bd. 106, S. 34, 1931.
6) S. Nicolau und L. Kopciowska: Comptes Rendus, Bd. 104, S. 290, 1930.
7) S. Nicolau und L. Kopciowska: Comptes Rendus, Bd. 104, S. 1130, 1930.
8) S. Nicolau und L. Kopciowska: Comptes Rendus, Bd. 104, S. 1142, 1930.
9) P. Lépine: Comptes Rendus*), Bd. 103, S. 1208, 1930.
10) P. Olitsky und P. Long: Journ. Exp. Med., Bd. 50, S. 263, 1929.
11) P. Olitsky, Rhoads and P. Long: Journ. Exp. Med., Bd. 50, S. 273, 1929.
12) v. Szent-Györgyi: Biochem. Zeitschr., Bd. 113, S. 29, 1921.

*) Sämtlich: des Séances de la Société de Biologie.

LEBENSLAUF.

Ich wurde am 9. Dezember 1907 zu Recklinghausen geboren. Dortselbst besuchte ich drei Jahre hindurch die Volksschule und trat hierauf in das Realprogymnasium in Castrop ein. Meine Reifeprüfung legte ich Ostern 1926 an der Oberrealschule zu Recklinghausen ab. Meine medizinischen Studien begann ich in Marburg, setzte sie in Rostock fort und machte hier im Frühjahr 1928 das Physikum. Die klinischen Semester verbrachte ich an den Universitäten Bonn, Wien, Würzburg, Berlin, und die zwei letzten an der medizinischen Akademie in Düsseldorf. Das medizinische Staatsexamen habe ich am 26. Juni 1931 an der medizinischen Akademie in Düsseldorf abgeschlossen.